

CORRELAZIONE TRA VACCINAZIONI E TITOLI ANTICORPALI NEI CONFRONTI DEL VIRUS DEL CIMURRO E DELL'ADENOVIRUS DEL CANE TIPO 2 IN CANI ADULTI E IN CUCCIOLI

PAOLA SAGAZIO, ALESSANDRA CAVALLI, DOMENICO BUONAVOGLIA,
FRANCESCO CIRONE, ANNAMARIA PRATELLI, CANIO BUONAVOGLIA

Dipartimento di Sanità e Benessere degli animali-Sezione Malattie Infettive-Facoltà di Medicina Veterinaria
Università degli studi di Bari-S.p. per Casamassima km 3 - 70010 Valenzano (Bari)

Riassunto

È stata valutata la risposta anticorpale nei confronti del virus del cimurro (CDV) e dell'adenovirus del cane tipo 2 (CAV-2) in un gruppo di cani di un anno, sottoposti da cuccioli a regolare vaccinazione, e in un gruppo di cuccioli di 25-35 giorni di età.

È stata evidenziata un'alta percentuale di sieri negativi per CDV. In base ai buoni risultati riscontrati, in parallelo, verso CAV-2, viene ipotizzato che la valenza CDV sia risultata meno immunogena per un deterioramento in fase di produzione o di conservazione dei vaccini.

Summary

The antibody levels to Canine Distemper Virus (CDV) and Canine Adenovirus type 2 (CAV-2) in sera of dogs one year old, vaccinated when they were pups, and in sera of pups 25-35 days old born from vaccinated dams, were evaluated.

A high rate of sera without antibodies to CDV was detected. The good antibody titers to CAV-2 in the same sera, suggests a loss of immunogenic property of the CDV component probably due to not properly production and/or storage of the vaccines.

INTRODUZIONE

Il cimurro del cane è una malattia infettiva e contagiosa caratterizzata da sintomatologia respiratoria, gastroenterica e nervosa.

L'agente eziologico, *Canine Distemper Virus* (CDV), appartiene alla Famiglia *Paramixoviridae*, genere *Morbillivirus*, insieme al virus del morbillo dell'uomo (MV), al virus della peste bovina (RPV), al virus della peste dei piccoli ruminanti (PPRV) e ai virus che colpiscono le foche (*phocine distemper virus*, PDV), i delfini (*dolphin morbillivirus*, DMV) e le focene (*porpoise morbillivirus*, PMV)¹.

Alla stretta correlazione antigenica dei *Morbillivirus* non corrisponde, tuttavia, una *cross*-patogenicità nel senso che tali virus riescono a causare patologie quasi esclusivamente nell'animale *target*² perchè, probabilmente, l'emoagglutinina virale si adsorbe elettivamente solo al suo specifico recettore³.

I virus appartenenti alla famiglia *Paramixoviridae* penetrano nell'ospite, generalmente, per via respiratoria e solitamente determinano un quadro clinico limitato all'apparato respiratorio. CDV ed MV, invece, tramite linfociti e monociti, possono diffondere all'intero organismo ed anche al sistema nervoso centrale⁴.

Il linfotropismo e neurotropismo di MV e CDV, così come la loro capacità di determinare una infezione persistente nei rispettivi ospiti, hanno fatto ipotizzare che questi virus possano essere rispettivamente coinvolti nella immunopatogenesi della "panencefalite sclerosante subacuta dell'uomo" ("*Subacute sclerosing panencephalitis*": SSPE)⁴⁻⁵⁻⁶ e della "encefalite del cane vecchio" ("*Old dog encephalitis*": ODE)⁷.

L'unica misura praticabile ed efficace per controllare il cimurro è la vaccinazione anche se, in parallelo, è possibile ed opportuno adottare misure di profilassi igienico sanitaria.

La vaccinazione nei confronti di CDV, sperimentata già nel 1923 da Puntoni con un vaccino inattivato con formalina⁸ ha avuto una notevole diffusione tra il 1950 e 1960, allorché si misero a punto i vaccini vivi modificati⁹⁻¹⁰⁻¹¹.

L'impiego su vasta scala di questi vaccini (stipite Onderstepoort avianizzato e stipite Rockborn adattato alle cellule di cane) ha permesso di ottenere una drastica riduzione dei casi di cimurro anche se, a partire dal 1980, sono state osservate in Europa diverse epizootie di cimurro dapprima in Svizzera (1984-'85), poi in Francia (1987-'89) quindi, subito dopo, in Belgio, Olanda e Danimarca¹²⁻¹³.

Anche in Italia, a partire dal 1991, sono stati segnalati numerosi casi di cimurro e, in alcune zone, l'infezione ha assunto i caratteri di una vera epizootia. È interessante il dato che, da un punto di vista clinico, è stata sempre constatata una prevalenza della sintomatologia nervosa rispetto ai sintomi a carico dell'apparato respiratorio e digerente. Per spiegare questa recrudescenza del cimurro è stata ipotizzata la comparsa di una nuova variante di CDV o la reversione della patogenicità dello stipite vaccinale¹².

Entrambe queste ipotesi sono state però rapidamente abbandonate.

Più verosimilmente, invece, si ritiene che la popolazione canina avesse un basso livello di immunità specifico verso CDV dovuto, come d'altronde si può verificare in altre analoghe situazioni, a uno dei seguenti fattori: i) al vaccino (scarsa qualità o cattiva conservazione); ii) ai cani (immunodepressione, malattie intercorrenti, etc.); iii) ai veterinari (somministrazione non corretta dei vaccini)¹².

Nella presente nota gli Autori riportano i risultati della valutazione anticorpale nei confronti di CDV e di *Canine Adenovirus tipo 2* (CAV-2) effettuata su 144 sieri di cane al fine di valutare lo stato immunitario in rapporto alle vaccinazioni.

MATERIALI E METODI

Sieri

Sono stati esaminati 144 sieri, di cui 106 prelevati a cani di un anno di età e 38 prelevati a cuccioli di 25-35 giorni.

Il campione costituito dai soggetti di un anno di età è stato scelto in base ai seguenti criteri:

- animali in buono stato di salute;
- animali vaccinati all'età di 2-3 mesi dallo stesso veterinario che eseguiva il prelievo di sangue prima di effettuare la vaccinazione annuale;
- animali vaccinati con prodotti di identica composizione (CDV, CAV-2, *Canine parvovirus*: CPV, *Leptospira canicola* e *Leptospira icterohaemorrhagiae*) e secondo lo stesso protocollo: 2 dosi di vaccino a distanza di 20 giorni;
- animali che non avevano presentato patologie significative nel corso del primo anno di vita.

I 38 sieri dei cuccioli sono stati prelevati a soggetti appartenenti a 7 cucciolate nate da cagne di circa 3 anni di età, in buono stato di salute e regolarmente vaccinate 2 mesi prima dell'accoppiamento con prodotti di identica composizione (CDV, CAV-2, CPV, *Leptospira canicola* e *Leptospira icterohaemorrhagiae*).

Sieroneutralizzazione (SN)

I sieri sono stati deplementati a 56°C per 30 minuti e quindi esaminati con la reazione di sieroneutralizzazione in micrometodo partendo dalla diluizione 1:5 e procedendo, per raddoppio, sino alla diluizione 1:640.

A ciascuna diluizione dei sieri sono state aggiunte 100 Dosi Infettanti Tessuto Colture₅₀ (TCID₅₀) dello stipite *Onderstepoort* di CDV e, dopo 60 minuti di contatto a temperatura ambiente, a ciascuna miscela siero-virus sono state aggiunte 20.000 cellule della linea Vero (rene di scimmia). In ogni prova sono stati utilizzati, come controlli, un siero di cane positivo ed uno negativo per anticorpi nei confronti di CDV.

La lettura dei risultati è stata effettuata dopo 3 gg di incubazione a 37°C.

Utilizzando la stessa tecnica sierologica, i sieri sono stati esaminati anche nei confronti di CAV-2, utilizzando cellule renali di cane, *Madin Darby Canine Kidney* (MDCK), e lo stipite Toronto di CAV-2.

RISULTATI

Nella Figura 1 sono riportati i risultati delle prove di SN per CDV e CAV-2 effettuate sui sieri dei cani di un anno. Nei confronti di CDV sono risultati positivi 76 su 106 sieri esaminati (71,7%) con titoli anticorpali compresi tra 1:5 e 1:640. Nei confronti di CAV-2 sono invece risultati positivi 102 su 106 sieri esaminati (96,2%). I titoli anticorpali sono risultati compresi tra 1:5 e 1:640.

Nella Figura 2 sono riportati, invece, i risultati delle prove di SN per CDV e CAV-2 effettuate sui 38 sieri di cuccioli. Nei confronti di CDV sono risultati positivi 20 sieri (52,6%) con titoli compresi tra 1:5 e 1:80. Verso CAV-2 sono risultati positivi 30 sieri (78,9%) con titoli oscillanti tra 1:5 e 1:160.

DISCUSSIONE

La valutazione dei titoli anticorpali nei confronti di CDV e CAV-2 effettuata sui sieri di cani di un anno, regolarmente vaccinati da cuccioli, e sui sieri di cuccioli nati da madri anch'esse regolarmente vaccinate, ha messo in evidenza una bassissima percentuale di sieri negativi nei confronti di CAV-2 e una preoccupante elevata percentuale di sieri negativi per CDV.

In effetti verso CAV-2 solo 4 dei 106 sieri dei cani di 1 anno e 8 dei 38 sieri dei cuccioli sono risultati privi di anticorpi.

Nei confronti di CDV, invece, ben 30 dei 106 sieri dei cani di 1 anno e 18 dei 38 sieri dei cuccioli sono risultati negativi.

Inoltre, verso CDV i sieri positivi hanno evidenziato titoli anticorpali generalmente bassi in rapporto anche al valore minimo (>1:10) correntemente ritenuto indicativo di protezione nei confronti dell'infezione da CDV. Quindi, oltre ai 30 sieri negativi, anche i 3 sieri con titolo 1:5 e i 10 sieri con titolo 1:10, per un totale di 43 su 106 sieri (40,57%), potrebbero indicare assenza di protezione nei confronti di CDV patogeno. Tuttavia, in linea genera-

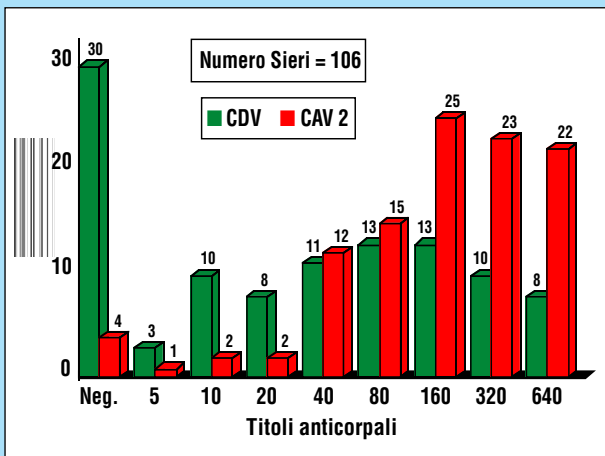


FIGURA 1 - Risultati degli esami sierologici per CDV e CAV-2 effettuati sui sieri di cani di 1 anno.

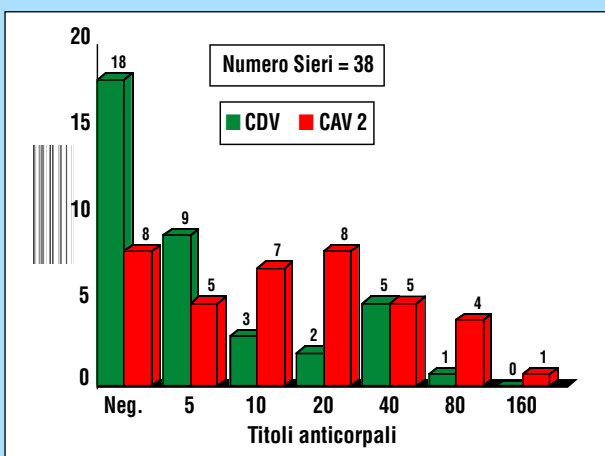


FIGURA 2 - Risultati degli esami sierologici per CDV e CAV-2 effettuati sui sieri dei cuccioli.

le, la presenza di anticorpi non sempre equivale a protezione nei confronti dell'infezione, come, d'altronde, l'assenza di anticorpi non sempre corrisponde a mancata protezione.

La determinazione dei valori anticorpali rappresenta però, un parametro fondamentale utilizzato per valutare, in maniera indiretta, la "qualità" di una vaccinazione.

La insufficiente risposta anticorpale verso la valenza vaccinale CDV riscontrata in cani di 1 anno di età e l'assenza degli anticorpi evidenziata in molti cuccioli, testimoniano, in generale, una scarsa "immunità di popolazione" verso CDV e suggeriscono l'adozione di idonee misure in grado di minimizzare tali inconvenienti.

Potrebbe essere opportuno, ad esempio, verificare che vengano commercializzati vaccini di ottima qualità, ma, soprattutto, dovrebbe essere prestata particolare attenzione al monitoraggio sistematico della catena del freddo in fase di conservazione e distribuzione dei vaccini. Tuttavia, in attesa che l'immunità di popolazione verso CDV ritorni

su valori accettabili, la vaccinazione delle cucciolate, soprattutto nelle situazioni a rischio, andrebbe effettuata in maniera mirata dopo aver valutato l'immunità colostrale specifica.

Abbreviazioni

CDV: Canine Distemper Virus. MV: Measles Virus. RPV: Rinderpest Virus. PPRV: Peste-des-Petits Ruminants Virus. PDV: Phocine Distemper Virus. DMV: Dolphin Morbillivirus. PMV: Porpoise Morbillivirus. CAV-2: Canine Adenovirus type-2. CPV: Canine Parvovirus. SN: sieroneutralizzazione.

Parole chiave

Cimurro, adenovirus del cane tipo 2, vaccinazioni, anticorpi.

Key words

Canine distemper, canine adenovirus type 2, vaccinations, antibodies.

Bibliografia

- Osterhaus A.D.M.E., de Swart R.L., Vos H.W., Ross P.S., Kenter M.J.H., and Barrett T. Morbillivirus infections of aquatic mammals: newly identified members of the genus. *Vet. Microbiol.*, 44: 219, 1995.
- DeLay P.D., Stone S.S., Karzon D.T., Katz S., and Enders J. Clinical and immune response of alien hosts to inoculation with measles, rinderpest, and canine distemper viruses. *Am. J. Vet. Res.*, 26: 1359, 1965.
- Dorig R.E., Marcil A., and Richardson C.D. CD46, a primate-specific receptor for measles virus. *Trends Microbiol.*, 2:312, 1994.
- Sidhu M.S., Husar W., Cook S.D., Dowling P.C., and Udem S.A. Canine distemper terminal and intergenic non-protein coding nucleotide sequences: completion of the entire CDV genome sequence. *Virology*, 193: 66, 1993.
- Cook S.D., Dowling P.C., and Russell W.C. Neutralizing antibodies to canine distemper and measles virus in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 41:69, 1979.
- Billeter M.A., and Cattaneo R. Molecular biology of defective measles viruses persisting in the human central nervous system. In "The Paramyxoviruses" (D.W. Kingsbury, Ed.) pp. 323-345. Plenum, New York, 1991.
- Shapshak P., Graves M.C., and Imagawa D.T. Polypeptides of canine distemper virus strains from dogs with chronic neurological diseases. *Virology*, 122:158, 1982.
- Puntoni V. Saggio di vaccinazione anticimurrosa preventiva eseguita per mezzo del virus specifico. *Ann. Igiene.*, 33: 553, 1923.
- Cabasso V.J., Burckhardt R.L., and Leaming J.D. The use of an egg-adapted modified canine distemper virus vaccine under experimental conditions and in the field. *Vet. Med.*, 46:167, 1951.
- Haig D.A. Canine distemper- immunization with avianized virus Onderstepoort. *J. Vet. Res.*, 17: 19, 1956.
- Rockborn G. An attenuated strain of canine distemper virus in tissue culture. *Nature*, 184:822, 1959.
- Adelus-Neveu F., Saint-Gerand A.L., Fayet G. Il cimurro: lezione di un'epizootia. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 12:17, 1991.
- Blixenkron-Møller M., Svansson V., Have P., Ørvell C., Appel M., Pederson I.R., Dietz H.H., and Henriksen P. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. *Vet. Microbiol.*, 37:163, 1993.